

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-288237

(43)Date of publication of application : 04.11.1997

(51)Int.Cl.

G02B 21/10

(21)Application number : 08-172437

(71)Applicant : BUNSHI BIO PHOTONICS
KENKYUSHO:KK

(22)Date of filing : 02.07.1996

(72)Inventor : TAMURA YUICHI

(30)Priority

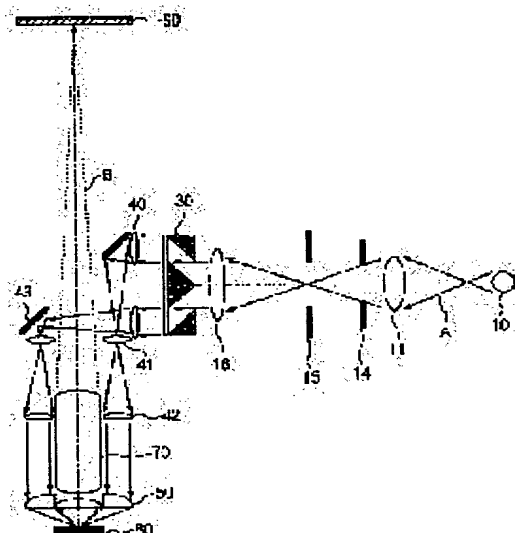
Priority number : 08 32236 Priority date : 20.02.1996 Priority country : JP

(54) DARK FIELD VERTICAL ILLUMINATING MICROSCOPE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To efficiently and uniformly irradiate an object to be measured with illumination light and to observe an optical image of good contrast.

SOLUTION: The illumination light A emitted from a light source 10 is made incident on a double conical mirror 30 through a collector lens 11, an aperture diaphragm 14, a visual field diaphragm 15 and a collimator lens 16, and then, the light is formed to parallel zonal luminous fluxes with hardly generating a loss. The illumination light A as the parallel zonal luminous fluxes is also made incident on a condenser lens 50 through a zonal relay lens 40, a zonal reflection mirror 43 and zonal relay lenses 41 and 42 with hardly generating a transmission loss. The illumination light A is efficiently condensed on the surface of the object to be measured through the condenser lens 50, then, the object is irradiated with the light. Scattered light B generated in this process is transmitted through an objective lens 70, then, the optical image is detected by a photodetector 90.



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-288237

(43) 公開日 平成9年(1997)11月4日

(51) Int.Cl.⁹

G 0 2 B 21/10

識別記号

庁内整理番号

F I

G 0 2 B 21/10

技術表示箇所

審査請求 有 請求項の数20 O L (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願平8-172437

(22) 出願日 平成8年(1996)7月2日

(31) 優先権主張番号 特願平8-32236

(32) 優先日 平8(1996)2月20日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 595047385

株式会社分子バイオホトニクス研究所

静岡県浜北市平口5000番地

(72) 発明者 田村 雄一

静岡県浜北市平口5000番地 株式会社分子

バイオホトニクス研究所内

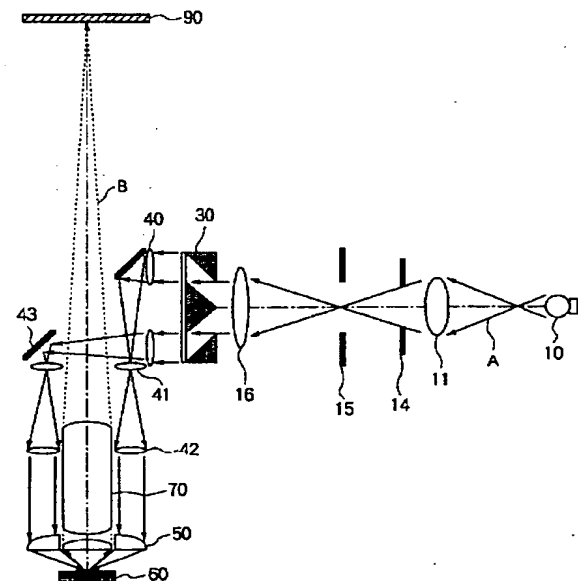
(74) 代理人 弁理士 長谷川 芳樹 (外3名)

(54) 【発明の名称】 暗視野落射顕微鏡

(57) 【要約】

【課題】 照明光を高効率かつ一様に被測定物に照射して、コントラストのよい光像を観察する。

【解決手段】 光源10から出力された照明光Aは、コレクタレンズ11、開口絞り14、視野絞り15およびコリメータレンズ16を経て、二重円錐鏡30に入射して、殆ど損失なく平行輪帯光束に成形される。平行輪帯光束とされた照明光Aは、輪帯リレーレンズ40、輪帯反射鏡43および輪帯リレーレンズ41と42を経て、やはり殆ど伝送損失なくコンデンサレンズ50に入射する。照明光Aは、コンデンサレンズ50によって被測定物60表面に高効率に集光照射される。これに伴って発生した散乱光Bは、対物レンズ70を経て光検出器90で像が検出される。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 第1の光束を出力する光源部と、
前記第1の光束を入力し輪帯形状に成形して出力する輪
帯光束形成手段と、

輪帯形状の前記第1の光束を伝送するリレーレンズ系
と、
前記リレーレンズ系から出力された前記第1の光束を入
力し被測定物の所定領域に集光照射する輪帯形状のコン
デンサレンズと、
前記コンデンサレンズの内側に同軸に配置され、前記第
1の光束が照射された前記被測定物の前記所定領域から
発した第2の光束を入力し、所定位置に結像する対物レ
ンズと、
前記対物レンズで結像された前記第2の光束を検出する
光検出手段と、
を備えることを特徴とする暗視野落射顕微鏡。

【請求項2】 前記輪帯光束形成手段は、前記第1の光
束を輪帯幅および光束径が略一定の平行輪帯形状として
出力するとともに、
前記リレーレンズ系は、その平行輪帯形状とされた前記
第1の光束を略一定径のまま伝送する1または2以上の
輪帯リレーレンズを備える、
ことを特徴とする請求項1記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項3】 前記輪帯光束形成手段は、円錐形状また
は円錐台形状の側面に形成された第1の反射鏡と円錐台
内壁側面に形成された第2の反射鏡とを備え、前記光源
部から出力された前記第1の光束を前記第1および前記
第2の反射鏡で順次反射させて平行輪帯形状として出力
する、ことを特徴とする請求項2記載の暗視野落射顕微
鏡。

【請求項4】 前記輪帯光束形成手段は、それぞれ回転
対称形状である第1のプリズムと第2のプリズムとを備
え、前記光源部から出力された前記第1の光束を前記第
1および前記第2のプリズムで順次屈折させて平行輪帯
形状として出力する、ことを特徴とする請求項2記載の
暗視野落射顕微鏡。

【請求項5】 前記輪帯光束形成手段は、円盤形状の反
射型の第1の回折格子と輪帯形状の反射型の第2の回折
格子とを備え、前記光源部から出力された前記第1の光
束を前記第1および前記第2の回折格子で順次回折させ
て平行輪帯形状として出力する、ことを特徴とする請求
項2記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項6】 前記輪帯光束形成手段は、円盤形状の透
過型の第1の回折格子と輪帯形状の透過型の第2の回折
格子とを備え、前記光源部から出力された前記第1の光
束を前記第1および前記第2の回折格子で順次回折させ
て平行輪帯形状として出力する、ことを特徴とする請求
項2記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項7】 前記輪帯光束形成手段は、回転対称形で
ある第1の曲面鏡と回転対称形であって中央に孔部が設

けられている第2の曲面鏡とを備え、前記光源部から出
力された前記第1の光束を前記第2の曲面鏡の孔部に入
力し、前記第1および前記第2の曲面鏡で順次反射させ
て平行輪帯形状として出力する、ことを特徴とする請求
項2記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項8】 前記リレーレンズ系は、
前記輪帯光束形成手段の入射側および出射側の何れかに
配置される第1の輪帯リレーレンズと、
前記コンデンサレンズの入射側に配置される第2の輪帯
リレーレンズと、
前記第1および前記第2の輪帯リレーレンズの間の光路
上に配置される第3の輪帯リレーレンズと、
を備えることを特徴とする請求項2記載の暗視野落射顕
微鏡。

【請求項9】 前記リレーレンズ系は、前記第1の輪帯
リレーレンズが前記輪帯光束形成手段と一体である、こ
とを特徴とする請求項8記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項10】 前記輪帯光束形成手段は、前記第1の
光束を輪帯幅が略一定であって光束径が次第に広がる傾
斜輪帯形状として出力するとともに、
前記リレーレンズ系は、傾斜輪帯形状の前記第1の光束
を入力し光束径が略一定であって輪帯幅が次第に狭くな
る集光輪帯形状として出力するリレーレンズと、その集
光輪帯形状とされた前記第1の光束を略一定径のまま伝
送する1または2以上の輪帯リレーレンズと、を備え
る、
ことを特徴とする請求項1記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項11】 前記輪帯光束形成手段は、円錐形状の
側面に形成された反射鏡を備え、前記光源部から出力さ
れた前記第1の光束を前記反射鏡で反射させて傾斜輪帯
形状として出力する、ことを特徴とする請求項10記載
の暗視野落射顕微鏡。

【請求項12】 前記輪帯光束形成手段は、入射面およ
び出射面の少なくとも何れか一方が凸状または凹状の円
錐形状である回転対称形の円錐プリズムを備え、前記光
源部から出力された前記第1の光束を前記円錐プリズム
で屈折させて傾斜輪帯形状として出力する、ことを特徴
とする請求項10記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項13】 前記輪帯光束形成手段は、円盤形状の
透過型の回折格子を備え、前記光源部から出力された前
記第1の光束を前記回折格子で回折させて傾斜輪帯形状
として出力する、ことを特徴とする請求項10記載の暗
視野落射顕微鏡。

【請求項14】 前記輪帯リレーレンズはフレネルレン
ズである、ことを特徴とする請求項2または9記載の暗
視野落射顕微鏡。

【請求項15】 前記リレーレンズ系は、前記光源部の
像を前記コンデンサレンズの前側焦点面に結像し、
前記コンデンサレンズは、前記被測定物の前記所定領域
をケーラー照明法で照明する、

ことを特徴とする請求項1記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項16】 前記光源部は、前記第1の光束の光路上に配され、前記第1の光束の光軸に垂直な平面上に複数の小レンズが配列されたレンズアレイを備える、ことを特徴とする請求項1記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項17】 前記被測定物に対して前記コンデンサレンズの反対側に配され、前記被測定物を透過した前記第1の光束を吸収する透過光吸収部材を更に備える、ことを特徴とする請求項1記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項18】 前記透過光吸収部材は、逆円錐形状の円錐内壁が傾斜して形成されて、前記被測定物を透過した前記第1の光束を前記円錐内壁で多重反射させて吸収する傾斜円錐内壁鏡である、ことを特徴とする請求項17記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項19】 前記傾斜円錐内壁鏡の前記円錐内壁の頂部に接続され、前記頂部に到達した前記第1の光束を入射して外部へ廃棄する光ファイバを更に備える、ことを特徴とする請求項18記載の暗視野落射顕微鏡。

【請求項20】 前記透過光吸収部材は、円錐台形状の遮光筒内壁が傾斜して形成されて、前記被測定物を透過した前記第1の光束を前記遮光筒内壁で多重反射させて吸収する傾斜円錐遮光筒である、ことを特徴とする請求項17記載の暗視野落射顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、暗視野落射方式で被測定物を照射して、その被測定物から発した光束（散乱光または蛍光）に基づいて被測定物を観察する暗視野落射顕微鏡に関するものである。

【0002】

【従来の技術】暗視野落射顕微鏡は、被測定物を暗視野方式で照明するため、光学系のフレアーノイズが殆どなく、コントラスト（S/N比）の非常に良い光学像が得られ、被測定物からの微弱な散乱光や蛍光を観察することができるものである。図23は、従来型の暗視野落射顕微鏡の光学系を示す図である。

【0003】この暗視野落射顕微鏡においては、光源10から出力された照明光Aは、先ず、コレクタレンズ11とコリメータレンズ16とによって略平行光束とされる。この平行光束とされた照明光Aは、遮光板20によって光軸近傍の光束が遮光され、光軸から離れた光束部分のみが透過して輪帯形状の光束に成形される。輪帯光束とされた照明光Aは、輪帯反射鏡43で反射され、拡散板21で拡散され、コンデンサレンズ50によって被測定物60の表面に集光照射される。ここで拡散板21は、被測定物60の所定領域に照明光Aを一様に照明するためのものであり、コンデンサレンズ50は、通常の球面レンズまたは反射鏡の中心部をくり貫いたものである。このようにして照明光Aが照射された被測定物60で発生した散乱光Bは、対物レンズ70に入射し、輪帯

反射鏡43の中央の孔部を通過して、光検出器90で検出される。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、上記従来の暗視野落射顕微鏡では、光源10から出力された照明光Aのうち遮光板20によって光軸から離れた光束部分のみを透過させて、これをコンデンサレンズ50に入射させることから、照明光Aの利用効率が悪い。例えば、図24に示すようなコンデンサレンズ50と対物レンズ70とからなる暗視野対物レンズ（照明光Aの入射側から見た平面図）について照明光Aの利用効率を説明する。この図に示した暗視野対物レンズの各部の寸法は一般的な値であり、ここでは、コンデンサレンズ50の内径を18mm、外形を24mmとする。このようなコンデンサレンズ50に照明光Aを輪帯光束として入射させる場合に、光源10から出力された照明光Aの遮光板20における最大利用効率 η_1 は、

$$\eta_1 = (12^2 - 9^2) / 12^2 = 0.43 \quad \dots (1)$$

となる。【0005】また、遮蔽板20から拡散板21に到るまでの光路は幅が狭く長いために、これに起因して、照明光Aがコンデンサレンズ50に到達する効率が悪くなる。例えば、図25に示すような視野絞り15からコンデンサレンズ50に到るまでの光学系について照明光Aの利用効率を説明する。この図においても光学要素間の距離などについては一般的な数値を示しており、視野絞り15の径を12mmとし、コンデンサレンズ50の内径を18mm、外形を24mmとし、視野絞り15とコリメータレンズ16との間の光路長すなわちコリメータレンズ16の焦点距離を200mmとし、コリメータレンズ16とコンデンサレンズ50との間の光路長を150mmとする。

【0006】このような光学系において、視野絞り15を通過した照明光Aの全てがコンデンサレンズ50に入射するのではない。すなわち、視野絞り15の中央付近から出射した光束A1（図中で実線で示されている光束）はコンデンサレンズ50に入射する。しかし、視野絞り15の周辺部から出射した光束A2（図中で波線で示されている光束）や、視野絞り15の中心から4mm離れた地点から出射した光束A3（図中で点線で示されている光束）は、コンデンサレンズ50に入射しない。すなわち、視野絞り15から出射した照明光Aのうち一部分しかコンデンサレンズ50に到達しないことになって、照明光Aの利用効率が低下する。

【0007】この場合、視野絞り15を通過した照明光Aがコンデンサレンズ50に入射する効率 η_2 は、以下のようにして求められる。まず、顕微鏡の画角（明視野落射照明の画角） α は、視野数（24mm）の半分すなわち像高半径（12mm）と結像レンズ（コリメータレンズ）16の焦点距離（200mm）とから、

$$\alpha \approx 12/200 = 0.06 \text{ rad} = 3.6^\circ \quad \dots (2)$$

で求められ、また、照明光Aの画角 β は、コーリメータレンズ16からコンデンサレンズ50までの光路の幅(3mm)と長さ(150mm)とから、

$$\beta \approx 3/150 = 0.02 \text{ rad} = 1.2^\circ \quad \dots (3)$$

で求められる。したがって、照明光Aの使用効率(暗視野照明の明視野照明に対する比) η_1 は、

$$\eta_1 = \beta^2 / \alpha^2 = 0.11 \quad \dots (4)$$

となる。

【0008】また、このような照明光学系の場合には、被測定物60上の照明範囲を確保することができない。そこで、従来では、一定の広さの照明範囲を確保するために、照明光学系の共役関係を崩し、コンデンサレンズ50の収差や拡散板21を利用して必要な照明範囲を確保していた。しかし、照明光学系の共役を崩すと、絞り機能が作用しなくなる。このように、照明範囲の確保と調整は両立し得なかった。

【0009】また、一般には臨界照明法が用いられており、光源10の像が被測定物60の表面に結像される。したがって、光源10からの照明光Aの出射強度分布が一樣でなく不均一である場合には、被測定物60に照射される照明光Aの強度分布も不均一となり、光検出器90で検出する散乱光の像は不正確なものとなる。そこで、従来より、照明範囲の極めて狭い100倍程度の高倍率対物レンズの場合を除いて、被測定物60上の所定領域に照明光Aを一樣に照射するために拡散板21を通常使用している。したがって、照明光Aは拡散板21から拡散して出射され、コンデンサレンズ50に入射する効率 η_1 は数分の一になる。

【0010】以上より、光源10から出射された照明光Aのうち被測定物60に照射される効率 η_1 は、 η_1 、 η_2 および η_3 の積で与えられ、その値は百分の一程度になる。このように照明光Aの利用効率が悪いことから、光検出器90で観察する被測定物60の像が暗い。また、照明範囲を限定・調整することができず、像のコントラストを改善することも困難であった。このことは、被測定物60から発生する散乱光が微弱であったり、被測定物60に含まれる蛍光物質から発生する蛍光が微弱である場合には、特に大きな問題であった。

【0011】本発明は、上記問題点を解消する為になされたものであり、光源から出力された照明光を高効率かつ一樣に被測定物に照射して、コントラストのよい光像を観察することができる暗視野落射顕微鏡を提供することを目的とする。

【0012】

【課題を解決するための手段】請求項1に係る暗視野落射顕微鏡は、(1) 第1の光束を出力する光源部と、(2) 第1の光束を入力し輪帯形状に成形して出力する輪帯光束形成手段と、(3) 輪帯形状の第1の光束を伝送するリレーレンズ系と、(4) リレーレンズ系から出力された第

1の光束を入力し被測定物の所定領域に集光照射する輪帯形状のコンデンサレンズと、(5) コンデンサレンズの内側に同軸に配置され、第1の光束が照射された被測定物の所定領域から発した第2の光束を入力し、所定位置に結像する対物レンズと、(6) 対物レンズで結像された第2の光束を検出する光検出手段と、を備えることを特徴とする。

【0013】この暗視野落射顕微鏡は以下のように作用する。光源部から出力された第1の光束(照明光または励起光)は、輪帯光束形成手段によって光束の損失が殆ど無く輪帯形状とされ、リレーレンズ系によって伝送損失が殆ど無くコンデンサレンズまで伝送される。したがって、光源部から出力された第1の光束の大部分が、コンデンサレンズによって被測定物の所定領域に集光照射されるので、その所定領域から発生する第2の光束(散乱光または蛍光)の強度は大きい。そして、この第2の光束は、対物レンズを経て光検出手段によって検出される。

【0014】請求項2に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項1記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、第1の光束を輪帯幅および光束径が略一定の平行輪帯形状として出力するとともに、リレーレンズ系が、その平行輪帯形状とされた第1の光束を略一定径のまま伝送する1または2以上の輪帯リレーレンズを備える、ことを特徴とする。この場合、輪帯光束形成手段により平行輪帯形状とされた第1の光束は、1または2以上の輪帯リレーレンズからなるリレーレンズ系により伝送される。

【0015】請求項3に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項2記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、円錐形状または円錐台形状の側面に形成された第1の反射鏡と円錐台内壁側面に形成された第2の反射鏡とを備えることを特徴とするものであり、光源部から出力された第1の光束を第1および第2の反射鏡で順次反射させて平行輪帯形状として出力する。

【0016】請求項4に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項2記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、それぞれ回転対称形状である第1のプリズムと第2のプリズムとを備えることを特徴とするものであり、光源部から出力された第1の光束を第1および第2のプリズムで順次屈折させて平行輪帯形状として出力する。

【0017】請求項5に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項2記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、円盤形状の反射型の第1の回折格子と輪帯形状の反射型の第2の回折格子とを備えることを特徴とするものであり、光源部から出力された第1の光束を第1および第2の回折格子で順次回折させて平行輪帯形状として出力する。

【0018】請求項6に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項2記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、円盤形状の透過型の第1の回折格子と輪帯形状の透過型の第2の回折格子とを備えることを特徴とするものであり、光源部から出力された第1の光束を第1および第2の回折格子で順次回折させて平行輪帯形状として出力する。

【0019】請求項7に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項2記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、回転対称形である第1の曲面鏡と回転対称形であって中央に孔部が設けられている第2の曲面鏡とを備えることを特徴とするものであり、光源部から出力された第1の光束を第2の曲面鏡の孔部に入力し、第1および第2の曲面鏡で順次反射させて平行輪帯形状として出力する。

【0020】請求項8に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項2記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、リレーレンズ系が、(1) 輪帯光束形成手段の入射側および出射側の何れかに配置される第1の輪帯リレーレンズと、(2) コンデンサレンズの入射側に配置される第2の輪帯リレーレンズと、(3) 第1および第2の輪帯リレーレンズの間の光路上に配置される第3の輪帯リレーレンズと、を備えることを特徴とする。この場合、輪帯光束形成手段により平行輪帯光束に形成された第1の光束は、リレーレンズ系を構成する第1ないし第3の輪帯リレーレンズにより伝送され、第1の光束の自由光路長（光学系のない光路の光路長を便宜的にこのように呼ぶ）が短くなる。

【0021】請求項9に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項8記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、第1の輪帯リレーレンズが輪帯光束形成手段と一体である、ことを特徴とする。この場合、光学素子それぞれの配置と装置の取り扱いが容易になる。

【0022】請求項10に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項1記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、第1の光束を輪帯幅が略一定であって光束径が次第に広がる傾斜輪帯形状として出力するとともに、リレーレンズ系が、傾斜輪帯形状の第1の光束を入力し光束径が略一定であって輪帯幅が次第に狭くなる集光輪帯形状として出力するリレーレンズと、その集光輪帯形状とされた第1の光束を略一定径のまま伝送する1または2以上の輪帯リレーレンズとを備える、ことを特徴とする。この場合、輪帯光束形成手段により傾斜輪帯形状とされた第1の光束は、リレーレンズにより集光輪帯形状とされ、さらに、1または2以上の輪帯リレーレンズにより伝送される。

【0023】請求項11に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項10記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、円錐形状の側面に形成された反射鏡を備えることを特徴とするものであり、光源部から出力

された第1の光束を反射鏡で反射させて傾斜輪帯形状として出力する。

【0024】請求項12に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項10記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、入射面および出射面の少なくとも何れか一方が凸状または凹状の円錐形状である回転対称形の円錐プリズムを備えることを特徴とするものであり、光源部から出力された第1の光束を円錐プリズムで屈折させて傾斜輪帯形状として出力する。

【0025】請求項13に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項10記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯光束形成手段が、円盤形状の透過型の回折格子を備えることを特徴とするものであり、光源部から出力された第1の光束を回折格子で回折させて傾斜輪帯形状として出力する。

【0026】請求項14に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項2または9記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、輪帯リレーレンズがフレネルレンズであることを特徴とする。この場合、この輪帯リレーレンズを含む光学素子それぞれの配置が容易となる。

【0027】請求項15に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項1記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、リレーレンズ系が、光源部の像をコンデンサレンズの前側焦点面に結像し、コンデンサレンズが、被測定物の所定領域をケラー照明法で照明する、ことを特徴とする。この場合、光源部の発光ムラの影響を受けることなく、第1の光束は被測定物に一樣に照射される。

【0028】請求項16に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項1記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、光源部が、第1の光束の光路上に配され、第1の光束の光軸に垂直な平面上に複数の小レンズが配列されたレンズアレイを備える、ことを特徴とする。この場合、光源部の指向性の影響を受けることなく、第1の光束は被測定物に一樣に照射される。

【0029】請求項17に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項1記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、被測定物に対してコンデンサレンズの反対側に配され、被測定物を透過した第1の光束を吸収する透過光吸収部材を更に備える、ことを特徴とする。この場合、被測定物に照射されて透過した第1の光束が再び被測定物を透過して対物レンズに入射することはないので、S/N比の優れた第2の光束の像が得られる。

【0030】請求項18に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項17記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、透過光吸収部材が、逆円錐形状の円錐内壁が傾斜して形成されて、被測定物を透過した第1の光束を円錐内壁で多重反射させて吸収する傾斜円錐内壁鏡である、ことを特徴とする。この場合、被測定物を透過した第1の光束は傾斜円錐内壁鏡により好適に吸収される。

【0031】請求項19に係る暗視野落射顕微鏡は、請

求項18記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、傾斜円錐内壁鏡の円錐内壁の頂部に接続され、頂部に到達した第1の光束を入射して外部へ廃棄する光ファイバを更に備える、ことを特徴とする。この場合、傾斜円錐内壁鏡の円錐内壁の頂部に到達した第1の光束は、光ファイバにより外部に廃棄される。

【0032】請求項20に係る暗視野落射顕微鏡は、請求項17記載の暗視野落射顕微鏡であって、さらに、透過光吸収部材が、円錐台形状の遮光筒内壁が傾斜して形成されて、被測定物を透過した第1の光束を遮光筒内壁で多重反射させて吸収する傾斜円錐遮光筒である、ことを特徴とする。この場合、被測定物を透過した第1の光束は、傾斜円錐遮光筒により好適に吸収される。

【0033】

【発明の実施の形態】以下、添付図面を参照して本発明の実施の形態を詳細に説明する。尚、図面の説明において同一の要素には同一の符号を付し、重複する説明を省略する。

【0034】（第1の実施形態）まず、第1の実施形態について説明する。図1は、第1の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。

【0035】光源10は、被測定物60に照射すべき照明光（第1の光束）Aを出射するものである。この光源10から出射された照明光Aは、コレクタレンズ11で集光され、開口絞り14および視野絞り15それぞれの開口部を通過し、コリメータレンズ16に入射して平行光束とされる。ここで、開口絞り14は、コレクタレンズ11によって光源10の光像が結像される位置に配置されており、被測定物60に照射される照明光Aの光量を調整するものである。また、視野絞り15は、視野絞り15と被測定物60との間の光学系によって視野絞り15の像が被測定物60表面に結像される位置に配置されており、照明光Aが照射される被測定物60上の範囲を定めるものである。

【0036】このようにしてコリメータレンズ16によって平行光束とされた照明光Aは、輪帯光束形成手段としての二重円錐鏡30によって平行輪帯光束に成形される。この平行輪帯光束は、輪帯幅も光束径も一定の輪帯光束である。そして、この平行輪帯光束は、輪帯リレーレンズ40、輪帯反射鏡43、輪帯リレーレンズ41、42を順に経て、コンデンサレンズ50によって被測定物60表面の所定領域に集光照射される。なお、輪帯光束形成手段である二重円錐鏡30および輪帯リレーレンズ40の何れかを照明系の入射瞳の共役位置に配置すると、被測定物60表面の所定領域が一様に明るく照明されるので好ましい。そして、被測定物60に照明光Aが照射されて発生した散乱光（第2の光束）Bは、対物レンズ70で結像されて光検出器90によって検出される。

【0037】本実施形態においてはケーラー照明法を採

用している。すなわち、コリメータレンズ16から輪帯リレーレンズ42に到るまでの光学系によってコンデンサレンズ50の前側焦点面に開口絞り14の像が結像されるよう、開口絞り14は配置されている。そして、コンデンサレンズ50は、前側焦点面に結像された照明光Aを入力して、被測定物60表面に照射する。

【0038】このようなケーラー照明法を採用することにより、光源10の発光ムラ（光源10の出射位置による強度の違い）が解消されて、被測定物60表面の所定領域は一様に照明される。したがって、従来の暗視野落射顕微鏡では必要であった拡散板は不要となり、輪帯リレーレンズ系で伝送されてきた照明光Aを高効率に利用することができる。それだけでなく、被測定物60に照明光Aが照射される照明範囲を確保でき、その照明範囲の調整も可能となる。

【0039】次に、輪帯光束形成手段としての二重円錐鏡30について説明する。図2は、この二重円錐鏡30の出射側から見た平面図（a）、入射側から見た平面図（b）、光軸に沿って切断した端面図（c）、および斜視図（d）である。二重円錐鏡30は、光軸を中心とする回転対称体であって、円錐形状の側面に形成された反射鏡30Aと、それに対面する円錐台形状の内壁に形成された反射鏡30Bとからなる。入射端30aに入射した照明光Aは、まず、円錐形状の側面に形成された反射鏡30Aで反射され、続いて、円錐台形状の内壁に形成された反射鏡30Bで反射されて、出射端30bから平行輪帯光束として出射される。

【0040】なお、照明光Aを平行輪帯光束に成形する手段は、この二重円錐鏡30に限られない。例えば、輪帯光束形成プリズムを利用しても照明光Aを平行輪帯光束とすることができる。図3は、輪帯光束形成プリズムの出射側から見た平面図（a）、入射側から見た平面図（b）、光軸に沿って切断した断面図（c）、および斜視図（d）である。輪帯光束形成プリズム31は、光軸を中心とする回転対称体であって、一対のプリズム31Aとプリズム31Bとからなる。入射端31aから入射した照明光Aは、最初にプリズム31Aで屈折され、次にプリズム31Bで屈折され、出射端31bから平行輪帯光束として出射される。

【0041】また、反射型輪帯光束形成回折格子を利用しても照明光Aを平行輪帯光束とすることができる。図4は、反射型輪帯光束形成回折格子を光軸に沿って切断した断面図である。図4（a）は、反射型輪帯光束形成回折格子32の断面図であり、図4（b）は、その断面の形状を模式的に拡大して示した図である。この図に示すように、反射型輪帯光束形成回折格子は、断面形状が鋸歯状の輪帯格子からなる一対の反射型の回折現象を利用して平行輪帯光束を形成するものである。この場合、入射端32aに入射した照明光Aは、一方の回折格子32Aの中央に設けられた孔部を通過して、他方の回折格

子32Bで反射・回折される。その回折された照明光Aは、回折格子32Aで反射・回折されて、平行輪帯光束として出射端32bから出力される。

【0042】また、透過型輪帯光束形成回折格子を利用して照明光Aを平行輪帯光束とすることができる。図5は、透過型輪帯光束形成回折格子を光軸に沿って切断した断面図である。図5(a)は、透過型輪帯光束形成回折格子33の断面図であり、図5(b)は、その断面の形状を模式的に拡大して示した図である。この図に示すように、透過型輪帯光束形成回折格子は、断面形状が鋸歯状の輪帯格子からなる一対の透過型の回折現象を利用して平行輪帯光束を形成するものである。この場合、入射端33aに入射した照明光Aは、一方の回折格子33Aの中央に設けられた格子部分で透過・回折され、その回折した照明光Aは、他方の回折格子33Bで透過・回折されて、平行輪帯光束として出射端33bから出力される。

【0043】このように、二重円錐鏡30、輪帯光束形成プリズム31、反射型輪帯光束形成回折格子32および透過型輪帯光束形成回折格子33の何れを用いても、その入射端に入射した照明光Aは遮断されることがなく、全ての光束が平行輪帯光束に形成されて出射される。したがって、照明光Aが平行輪帯光束に形成される際にも、光束の損失は極めて少ない。

【0044】次に、輪帯リレーレンズ40、41および42について説明する。輪帯リレーレンズ40、41および42それぞれは、図6に示すように、光軸を中心とする回転対称体であり、光軸に沿って切断したときの端面の形状が凸レンズ形状であって(図6(a))、照明光Aが入射する方向から見れば照明光Aの光束形状と同様の輪帯形状である(図6(b))。また、輪帯リレーレンズ40、41および42それぞれは互いに焦点距離に等しい光路長だけ隔てられて配置される。

【0045】なお、輪帯リレーレンズは、通常のガラスレンズであってもよいが、光の回折現象を利用するフレネル型のレンズであってもよい。図7は、輪帯フレネルレンズの端面図と平面図である。輪帯フレネルレンズは、光軸を中心とする回転対称体であり、光軸に沿って切断したときの端面が凸レンズと作用し得るフレネルレンズであって(図7(a))、照明光Aが入射する方向から見れば照明光Aの光束形状と同様の輪帯形状である(図7(b))。

【0046】また、輪帯リレーレンズは、多数のレンズを輪帯状に融着接続して形成されたものであってもよい。図8は、8個のレンズを融着接続して形成された輪帯リレーレンズの端面図と平面図である。この輪帯リレーレンズは、光軸に沿って切断したときの端面図(図8(a))も平面図(図8(b))も、図6に示した輪帯リレーレンズと同様である。そこで、融着接続される個々のレンズは、球面レンズ、シリンドリカルレンズある

いはこれらと同一機能のフレネルレンズ等であり、輪帯リレーレンズ系は、これらの組み合わせでもよい。また、平面形状が図8(b)に示した輪帯形状でなくともよく、例えば、八角形等の多角形であってもよい。また、輪帯リレーレンズの内径と外径との比が1に近く幅が狭い場合には、図9(a)の端面図および図9(b)の平面図に示すように、16や24あるいは更に多数の枚数のレンズを融着接続するのが好適である。

【0047】次に、輪帯リレーレンズ40、41および42からなる輪帯リレーレンズ系の作用について説明する。図10は、輪帯リレーレンズ系の作用を説明する図である。なお、ここでは説明の簡便のために輪帯反射鏡43を省略して、輪帯リレーレンズ40、41および42が一直線の光軸に沿って配置されているものとして説明する。この図に示すように、二重円錐鏡30で平行輪帯光束に形成された照明光Aは、輪帯リレーレンズ40に入射して、輪帯リレーレンズ41の位置に集光され、さらに、輪帯リレーレンズ41から出射した照明光Aは輪帯リレーレンズ42に入射して平行輪帯光束として出射される。そして、輪帯リレーレンズ42から出射された照明光Aはコンデンサレンズ50に入射し、被測定物60表面に集光照射される。

【0048】このように二重円錐鏡30とコンデンサレンズ50との間に輪帯リレーレンズ系を設けることにより、視野絞り15と被測定物60との間の照明光学系は無限遠光学系となる。したがって、視野絞り15を通過した照明光Aは、被測定物60表面に高効率に照射されるだけでなく、必要な照明範囲の確保と調整も可能となる。

【0049】例えば、平行輪帯光束とされた照明光Aの光路幅を3mmとし、画角を $0.06 \text{ rad} (= 3.6^\circ)$ とした場合に、輪帯リレーレンズ40、41および42それぞれの焦点距離fが、

$$f < 3 \text{ mm} / 0.06 = 50 \text{ mm} \quad \dots (5)$$

であれば、輪帯リレーレンズ系は照明光Aを損失なく伝送することができる。また、3枚の焦点距離50mmの輪帯リレーレンズ40、41および42を50mm間隔に配置することにより、自由光路(光学系のない光路)を100mm短縮することができる。

【0050】短縮すべき自由光路の長さと同幅および画角(照明範囲)が異なる場合には、輪帯リレーレンズの焦点距離、間隔および枚数を最適に設計する。ただし、輪帯リレーレンズの枚数は3以上の奇数であることが望ましい。また、輪帯リレーレンズを含めて光学素子それぞれの配置の問題やコストの制約がある場合には、理論値とは異なる或程度の伝送損失を見込んで現実的配置も可能である。

【0051】なお、図10では、照明光Aのうち視野絞り15の中心から発した光束のみについて説明した。しかし、実際には、視野絞り15の開口部は点ではなく有

限の径を有するから、照明光Aのうち視野絞り15の開口部の周辺部から発した光束については、図10に示すような経路を経るのではない。

【0052】図11は、輪帯リレーレンズ系に斜めに入射した場合の照明光Aの光路を説明する図である。なお、この図では、説明を更に簡便にするために、輪帯リレーレンズ40、41および42それぞれについて、光軸に沿って切断したときに現れる2端面のうちの1端面についてのみ記してある。この図で、一点鎖線で示した照明光A1は、図10で示した照明光Aと同様のものであり、輪帯リレーレンズ系の光軸に平行に入射するものである。

【0053】輪帯リレーレンズ40に斜めに入射する照明光A2（図で実線で示した光束）は、照明光Aのうち視野絞り15の開口部の周辺部から発した光束であり、やはり平行光束である。この照明光A2は、輪帯リレーレンズ系がないとした場合（すなわち、従来の暗視野落射顕微鏡の場合）には、破線で示した方向に進むので、コンデンサレンズ50に入射せず、無駄になってしまう。

【0054】しかし、輪帯リレーレンズ系がある場合には、この照明光A2は、輪帯リレーレンズ40によって輪帯リレーレンズ41の位置に集光され、さらに、輪帯リレーレンズ41から出射した照明光A2は輪帯リレーレンズ42に入射して平行輪帯光束として出射される。そして、この照明光A2は、輪帯リレーレンズ系の光軸に平行に入射して輪帯リレーレンズ42から出射した照明光A1と交わる方向に進む。このように輪帯リレーレンズ系を用いることにより、視野絞り15を通過した照明光Aは再び一定領域に集められるので、二重円錐鏡30によって平行輪帯光束とされた照明光Aはコンデンサレンズ50まで効率よく伝送される。

【0055】なお、上記実施形態においては、輪帯リレーレンズ系は、3枚の輪帯リレーレンズ40、41および43を備えて構成されるものであった（図12（a））。しかし、輪帯リレーレンズ系を構成する輪帯リレーレンズの枚数は3またはそれ以上の奇数枚に限られるものではない。例えば、図12（b）に示すように、低倍率のコンデンサレンズ50Aが用いられ、且つ、初段の輪帯リレーレンズ40Aからコンデンサレンズ50Aまでの光路が比較的短い場合には、輪帯リレーレンズ系は、2枚の輪帯リレーレンズ40Aおよび41Aで構成してもよい。

【0056】以上のように、照明光Aを平行輪帯光束に成形する際においても、また、平行輪帯光束とされた照明光Aを輪帯リレーレンズ系でコンデンサレンズ50まで伝送する際においても、照明光Aの損失は極めて少ない。さらに、ケーラー照明法を採用することにより拡散板を不要としたので、この点でも照明光Aの有効利用が図られる。したがって、光源10から出力され視野絞り

15を通過した照明光Aの殆どの光束が被測定物60の所定領域に照射されることとなり、また、その所定領域から発生する散乱光Bの強度も強くなることから、光検出器90は極めて明るい光像を検出することができることになる。

【0057】（第2の実施形態）次に、第2の実施形態について説明する。図13は、第2の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。本実施形態に係る暗視野落射顕微鏡は、第1の実施形態と比較して、光源10の後段にレンズアレイ12等が設けられている点、輪帯リレーレンズとしてフレネルレンズが用いられている点、および、被測定物60の裏面側に傾斜円錐内壁鏡100等が設けられている点で異なる。

【0058】光源10から出力された照明光Aは、コレクタレンズ11を経てレンズアレイ12に入射する。このレンズアレイ12は、フライアイレンズあるいはインテグレートレンズとも呼ばれるもので、光軸に垂直な平面上に多数の小レンズが2次元状に配列され、個々の小レンズの入射端に入射した光束をその出射端に出射するものである。レンズアレイ12を構成する多数の小レンズそれぞれから出射された照明光Aは、コレクタレンズ13で集光され、開口絞り14および視野絞り15それぞれの開口部を通過し、コリメータレンズ16に入射して平行光束とされる。

【0059】ここで、開口絞り14は、コレクタレンズ13によってレンズアレイ12の光像が結像される位置に配置されており、被測定物60に照射される照明光Aの光量を調整する。また、視野絞り15は、視野絞り15と被測定物60との間の光学系によって視野絞り15の像が被測定物60表面に結像される位置に配置されており、照明光Aが照射される被測定物60上の範囲を定める。

【0060】コリメータレンズ16によって平行光束とされた照明光Aは、二重円錐鏡30によって平行輪帯光束に成形され、輪帯フレネルレンズ44、輪帯反射鏡43、輪帯フレネルレンズ45、46を順に経て、コンデンサレンズ50によって被測定物60表面の所定領域に集光照射される。輪帯フレネルレンズ44、45および46それぞれは、既に図7で説明したものであり、第1の実施形態における輪帯リレーレンズ40、41および42それぞれと同様の作用をする。なお、輪帯フレネルレンズ44は、二重円錐鏡30の出射端に貼り合わせられていてもよい。被測定物60に照明光Aが照射されて発生した散乱光Bは、対物レンズ70で結像されて光検出器90によって検出される。

【0061】本実施形態においては、ケーラー照明法の採用に加えて、レンズアレイ12を使用しており、これによって、被測定物60表面の所定領域に照明光Aを更に均一に照射することができる。すなわち、ケーラー照明法は、光源10における照明光Aの発光ムラを除去す

ることができるが、指向性を除去することができず、したがって、指向性を有する光源10から出力された照明光Aが被測定物60に斜めに照射される暗視野落射顕微鏡においては、これに起因して被測定物60上に照明ムラが生じる。そこで、レンズアレイ12を用いて、レンズアレイ12を構成する多数の小レンズそれぞれから出射された照明光Aを指向性のないものにする。これによって、被測定物60表面の所定領域に照明光Aを斜めに照射する場合でも均一に照射することができ、光検出器90は散乱光Bの像を正確に検出することができる。

【0062】また、本実施形態では、被測定物60の裏面側すなわち照明光Aが照射される側と反対側に傾斜円錐内壁鏡100が設けられている。この傾斜円錐内壁鏡100は、その表面に、深いほど径が小さい逆円錐形状の円錐内壁が傾斜して形成されている。被測定物60が透明である場合には、被測定物60に照射した照明光Aは一部が被測定物60を透過して裏面から出射するが、その透過光は、傾斜円錐内壁鏡100の傾斜円錐内壁に入射し、その傾斜円錐内壁で多重反射する際に吸収される。したがって、傾斜円錐内壁鏡100で反射して再び被測定物60を透過して表面に出てくる照明光Aの光量は極めて僅かであるので、これが、光検出器90による散乱光Bの検出に際してノイズとなることはない。

【0063】さらに、傾斜円錐内壁鏡100の頂点に孔部が設けられ、その孔部には光ファイバ101の入射端が接続されている。この光ファイバ101は、傾斜円錐内壁鏡100に入射した光束のうち多重反射による吸収によっても僅かに残った光束を、傾斜円錐内壁鏡100の頂点の孔部から外部へ廃棄する。このように光ファイバ101を設けることによって、再び被測定物60を透過して表面に出てくる照明光Aの光量は更に僅少になる。また、光ファイバ101の出射端に光検出器102を接続することにより、傾斜円錐内壁鏡100の孔部から廃棄される光束の光量をモニタすることができる。

【0064】(第3の実施形態)次に、第3の実施形態について説明する。図14は、第3の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。本実施形態に係る暗視野落射顕微鏡は、第2の実施形態と比較して、光束径調整器17が設けられている点、輪帯フレネルレンズ44に替えて二重円錐鏡30の入射側にフレネルレンズ47が設けられている点、および、対物レンズ70と光検出器90との間の光路上に結像レンズ80が設けられている点で異なる。

【0065】光源10から出力された照明光Aは、コレクタレンズ11を経て、多数の小レンズが2次元状に配列されたレンズアレイ12に入射する。このレンズアレイ12の個々の小レンズに入射端に入射した光束は、その出射端に出射される。レンズアレイ12を構成する多数の小レンズそれぞれから出射された照明光Aは、コレクタレンズ13で集光され、開口絞り14および視野絞

り15それぞれの開口部を通過し、コリメータレンズ16によって平行光束とされる。

【0066】ここで、開口絞り14は、コレクタレンズ13によってレンズアレイ12の光像が結像される位置に配置されており、被測定物60に照射される照明光Aの光量を調整する。また、視野絞り15は、視野絞り15と被測定物60との間の光学系によって視野絞り15の像が被測定物60表面に結像される位置に配置されており、照明光Aが照射される被測定物60上の範囲を定める。

【0067】コリメータレンズ16から出力された照明光Aは、光束径調整器17に入射して、所定の光束径の平行光束とされて出射される。光束径調整器17によって平行光束とされた照明光Aは、フレネルレンズ47、二重円錐鏡30、輪帯反射鏡43、輪帯フレネルレンズ45、46を順に経て、コンデンサレンズ50によって被測定物60表面の所定領域に集光照射される。そして、被測定物60に照明光Aが照射されて発生した散乱光Bは、無限遠系の対物レンズ70を経て結像レンズ80で結像されて光検出器90によって検出される。

【0068】ここで、フレネルレンズ47は、第2の実施形態における輪帯フレネルレンズ44に替えて、二重円錐鏡30の入射端に設けられる。このフレネルレンズ47は、光束径調整器17から出射された光束を入射して、輪帯フレネルレンズ45の位置に集光する。なお、フレネルレンズ47は、二重円錐鏡30の入射端に貼り合わせられていてもよい。また、輪帯フレネルレンズ45および46それぞれは、既に図7で説明したものであり、第2の実施形態において同符号を付した要素それぞれと同様の作用をする。したがって、フレネルレンズ47および輪帯フレネルレンズ45と46は、第1および第2の実施形態と同様にリレーレンズ系を構成する。ただし、フレネルレンズ47が輪帯ではない点および二重反射鏡30の入射側に設けられている点が第2の実施形態と異なる。したがって、フレネルレンズ47から出射された照明光Aは、次第に集束しながら、二重円錐鏡30で平行輪帯光束に成形され輪帯反射鏡43で反射され、輪帯フレネルレンズ45の位置に集光される。

【0069】また、光束径調整器17は、暗視野照明と明視野照明との切り替えを容易に行えるよう設けられたものである。例えば、対物レンズ70の開口数を0.5とし、対物レンズ70の倍率を10とし、コリメータレンズ16から対物レンズ17までの光路長を200mmとすると、明視野照明の場合には、照明開口数は0.05(=0.5/10)であり、対物レンズ17に入射する照明光Aの光束径は10mm(=0.05×200)である。これに対して、暗視野照明の場合には、コンデンサレンズ50に入射する照明光Aの光束径は、これまでに述べた数値例では3mmである。このように、明視野照明の場合と暗視野照明の場合とは光束径が異な

る。そこで、光束径調整器17は、この光束径の違いを調整するために設けられたものであり、入射した光束の径に対して出射する光束の径を3/10に縮小させる。

【0070】このようにすることにより、図14に示すような暗視野照明の構成から輪帯反射鏡43を取り去り、これに替えてビームスプリッタ（図示せず）を配置することにより、明視野照明に切り替えることができる。明視野照明においては、光束径調整器17から出射された照明光Aは、ビームスプリッタで反射され、対物

レンズ70で被測定物60表面に集光照射され、被測定物60から発生した散乱光と反射光は、対物レンズ70および結像レンズ80を経て光検出器90で検出される。

【0071】（第4の実施形態）次に、第4の実施形態について説明する。図15は、第4の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。本実施形態に係る暗視野落射顕微鏡は、第1の実施形態と比較して、蛍光顕微鏡である点、および、平行輪帯光束を形成する輪帯光束形成手段として二重曲面鏡が用いられている点が異なる。

【0072】光源10Aは、被測定物60に照射すべき励起光（第1の光束）Cを出射するものである。この光源10Aから出力された励起光Cは、コレクタレンズ11で集光され、開口絞り14および視野絞り15それぞれの開口部を通過し、二重曲面鏡29に入射する。ここで、開口絞り14は、コレクタレンズ11によって光源10Aの光像が結像される位置に配置されており、被測定物60に照射される励起光Cの光量を調整するものである。また、視野絞り15は、視野絞り15と被測定物60との間の光学系によって視野絞り15の像が被測定物60表面に結像される位置に配置されており、励起光Cが照射される被測定物60上の範囲を定めるものである。

【0073】二重曲面鏡29は、それぞれ回転対称形である凸面鏡29Aと凹面鏡29Bとからなり、凹面鏡29Bの中央には孔部が設けられている。視野絞り15の開口部を通過した励起光Cは、凹面鏡29Bの中央の孔部を通過して、先ず凸面鏡29Aで反射され、次に凹面鏡29Bで反射され、平行輪帯形状の光束として出力される。この二重曲面鏡29の詳細については後述する。

【0074】二重曲面鏡29から平行輪帯光束として出力された励起光Cは、励起フィルタ18により励起波長成分のみが透過し、輪帯リレーレンズ40、輪帯反射鏡43、輪帯リレーレンズ41、42を順に経て、コンデンサレンズ50によって被測定物60表面の所定領域に集光照射される。

【0075】被測定物60に励起光Cが照射されて発生した蛍光（第2の光束）Dは、対物レンズ70により結像されて光検出器90により検出される。対物レンズ70と光検出器90との間の光路上に設けられた吸収フィ

ルタ81は、励起光Cの散乱成分を吸収するものであって、励起光散乱成分が光検出器90に到達しないようにするものである。なお、自家蛍光を考慮すれば、この吸収フィルタ81は、被測定物60から光検出器90に至るまでの光路上において、できる限り前方に設けておくことが好ましく、例えば、対物レンズ70の被測定物60側、あるいは、対物レンズ70が複数のレンズで構成されている場合にそのレンズ間に設けておくのが好適である。

【0076】次に、二重曲面鏡29について詳細に説明する。この二重曲面鏡29は、既述の輪帯光束形成手段（二重円錐鏡30、輪帯光束形成プリズム31、反射型輪帯光束形成回折格子32、透過型輪帯光束形成回折格子33）と同様に平行輪帯光束を形成して出力するものであるが、既述の輪帯光束形成手段が平行光束を入力するのに対して、この二重曲面鏡29は、視野絞り15の開口部を通過して拡がり角をもって入射した光束を入力するものである。したがって、第1ないし第3の実施形態で必要であったコリメータレンズ16は、この二重曲面鏡29を使用する場合には不要となる。

【0077】この二重曲面鏡29については種々のタイプのものが知られている（参考：“Handbook of Optics”, 2nd Ed., Vol.2, Chap.18, McGraw-Hill, New York）。例えば、凸面鏡29Aおよび凹面鏡29Bそれぞれの形状として球面、放物面、楕円面または双曲面であるものが知られている。また、凸面鏡と凹面鏡との組み合わせではなく、凹面鏡と凹面鏡との組み合わせからなる二重曲面鏡も知られている。

【0078】このような二重曲面鏡は、他の輪帯光束形成手段（二重円錐鏡30、輪帯光束形成プリズム31、反射型輪帯光束形成回折格子32、透過型輪帯光束形成回折格子33）と比較して、以下の利点がある。すなわち、他の輪帯光束形成手段、特に、反射型輪帯光束形成回折格子32や透過型輪帯光束形成回折格子33は色収差が大きいのに対して、二重曲面鏡は、色収差がなく、より広い波長域で使用できる。また、二重曲面鏡は、二重円錐鏡30や輪帯光束形成プリズム31に比較して、頂点付近が特異ではないので、加工や光学系の調整が容易となる。さらに、他の輪帯光束形成手段では必要であった輪帯光束を平行にするレンズは、頂点の位置ずれや傾きの影響が比較的少ないので、二重曲面鏡では不要である。

【0079】（第5の実施形態）次に、第5の実施形態について説明する。図16は、第5の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。本実施形態に係る暗視野落射顕微鏡は、第1の実施形態と比較して、蛍光顕微鏡である点、輪帯幅が略一定で光束径が次第に広がる傾斜輪帯形状の励起光を出力する円錐鏡が輪帯光束形成手段として備えられている点、その傾斜輪帯形状の励起光をコンデンサレンズまで導くリレーレンズ系の

構成、および、被測定物の裏面側に傾斜円錐遮光筒が備えられている点において異なる。

【0080】光源10Aは、被測定物60に照射すべき励起光（第1の光束）Cを出射するものである。この光源10Aから出力された励起光Cは、コレクタレンズ11で集光され、開口絞り14および視野絞り15それぞれの開口部を通過し、コリメータレンズ16に入射して平行光束とされる。ここで、開口絞り14は、コレクタレンズ11によって光源10Aの光像が結像される位置に配置されており、被測定物60に照射される励起光Cの光量を調整するものである。また、視野絞り15は、視野絞り15と被測定物60との間の光学系によって視野絞り15の像が被測定物60表面に結像される位置に配置されており、励起光Cが照射される被測定物60上の範囲を定めるものである。

【0081】このようにしてコリメータレンズ16によって平行光束とされた励起光Cは、励起フィルタ18により励起波長成分のみが透過し、円錐鏡34により傾斜輪帯光束に成形される。この傾斜輪帯光束は、輪帯幅が一定であって光束径が次第に広がる輪帯光束である。そして、この傾斜輪帯光束となった励起光Cは、リレーレンズ39により、光束径が略一定であって輪帯幅が次第に狭くなる集光輪帯光束に成形され、この集光輪帯光束となった励起光Cは、輪帯反射鏡43、輪帯リレーレンズ48、49を順に経て、コンデンサレンズ50によって被測定物60表面の所定領域に集光照射される。なお、ここで、傾斜輪帯光束および集光輪帯光束それぞれの光束径は、光軸に垂直な面において光束の輪帯の幅についての中心位置を結んで構成される円の径をいう。

【0082】被測定物60に励起光Cが照射されて発生した蛍光（第2の光束）Dは、対物レンズ70および結像レンズ80により結像されて光検出器90により検出される。対物レンズ70と結像レンズ80との間の光路上に設けられた吸収フィルタ81は、励起光Cの散乱成分を吸収するものであって、励起光散乱成分が光検出器90に到達しないようにするものである。なお、自家蛍光を考慮すれば、この吸収フィルタ81は、被測定物60から光検出器90に至るまでの光路上において、できる限り前方に設けておくことが好ましく、例えば、対物レンズ70の被測定物60側、あるいは、対物レンズ70が複数のレンズで構成されている場合にそのレンズ間に設けておくのが好適である。

【0083】また、本実施形態においては、被測定物60の裏面側すなわち励起光Cが照射される側と反対側に傾斜円錐遮光筒110が設けられている。この傾斜円錐遮光筒110は、深いほど径が大きい円錐台内壁が傾斜して形成されたものである。被測定物60が透明である場合には、被測定物60に照射した励起光Cは一部が被測定物60を透過して裏面から出射するが、その透過光は、傾斜円錐遮光筒110の傾斜円錐内壁に入射し、そ

の傾斜円錐内壁で多重反射する際に吸収される。したがって、傾斜円錐遮光筒110で反射して再び被測定物60を透過して表面に出てくる励起光Cの光量は極めて僅かであるので、これが、光検出器90による蛍光Dの検出に際してノイズとなることはない。

【0084】次に、輪帯光束形成手段としての円錐鏡34について説明する。図17は、この円錐鏡34を光軸に沿って切断した断面図である。この円錐鏡34は、光軸を中心とする回転対称体であって、円錐形状の側面に反射鏡が形成されている。円錐形状の頂部側から入射した励起光Cは、その円錐形状の側面に形成された反射鏡で反射されて、傾斜輪帯光束として出射される。

【0085】なお、励起光Cを傾斜輪帯光束に成形する手段は、この円錐鏡34に限られない。例えば、凸円錐プリズムを利用して励起光Cを傾斜輪帯光束とすることができる。図18は、凸円錐プリズムを光軸に沿って切断した断面図である。この凸円錐プリズム35は、光軸を中心とする回転対称体であって、入射端35aが光軸に垂直な平面であり、出射端35bが凸円錐形状である。この凸円錐プリズム35の入射端35aに入射した励起光Cは、出射端35bで屈折されて、一度交差した後に傾斜輪帯光束として出射される。なお、入射端および出射端を入れ替えても構わない。

【0086】また、凹円錐プリズムを利用して励起光Cを傾斜輪帯光束とすることができる。図19は、凹円錐プリズムを光軸に沿って切断した断面図である。この凹円錐プリズム36は、光軸を中心とする回転対称体であって、入射端36aが光軸に垂直な平面であり、出射端36bが凹円錐形状である。この凹円錐プリズム36の入射端36aに入射した励起光Cは、出射端36bで屈折されて、傾斜輪帯光束として出射される。この場合も、入射端および出射端を入れ替えても構わない。

【0087】また、回折格子を利用して励起光Cを傾斜輪帯光束とすることができる。図20および図21は、回折格子を光軸に沿って切断した断面図である。図20は、回折格子37から出射した励起光Cが一度交差した後に広がるものであり、図21は、回折格子38から出射した励起光Cが直ちに広がるものである。これら何れの回折格子であっても、励起光Cは傾斜輪帯光束に形成されて出射される。

【0088】このように、円錐鏡34、凸円錐プリズム35、凹円錐プリズム36、回折格子37、38の何れを用いても、その入射端に入射した励起光Cは遮断されることなく、全ての光束が傾斜輪帯形状に成形されて出射される。したがって、励起光Cが傾斜輪帯光束に成形される際において光束の損失は極めて少ない。また、この輪帯光束は、リレーレンズ系により伝送損失が殆ど無くコンデンサレンズまで伝送され、さらに、第1の実施形態と同様にレーザ照明法を採用しているので、光源10Aから出射された励起光Cは効率よく被測定物60

の所定領域に集光照射される。

【0089】次に、輪帯光束形成手段としての円錐鏡34から被測定物60に到るまでの光学系の詳細について、図22を用いて説明する。図22(a)は、図16に示した光学系と同様のものである。ただし、ここでは説明の簡便のために励起フィルタ18および輪帯反射鏡43を省略して、リレーレンズ39、輪帯リレーレンズ48および49が一直線の光軸に沿って配置されているものとして説明する。

【0090】この図22(a)に示す光学系では、視野絞り15から出射した励起光Cは、コリメータレンズ16により平行光束とされて円錐鏡34に入射し、傾斜輪帯形状に成形されて出射される。この傾斜輪帯形状に成形された励起光Cは、輪帯幅を略一定に維持したまま光束径を次第に上げながらリレーレンズ39に入射し、リレーレンズ39から集光輪帯形状に成形されて出射される。この集光輪帯形状に成形された励起光Cは、光束径を略一定に維持したまま輪帯幅を次第に狭めながら輪帯リレーレンズ48の位置に到達し集光・入射される。さらに、この輪帯リレーレンズ48から出射された励起光Cは、輪帯リレーレンズ49に入射して平行輪帯光束として出射される。そして、輪帯リレーレンズ49から出射された励起光Cは、コンデンサレンズ50に入射し、被測定物60の表面の所定領域に集光照射される。

【0091】このように、円錐鏡34とコンデンサレンズ50との間に、リレーレンズ39並びに輪帯リレーレンズ48および49からなるリレーレンズ系を設けることにより、視野絞り15と被測定物60との間の照明光学系は無限遠光学系となる。したがって、視野絞り15を通過した励起光Cは、被測定物60表面に高効率に照射されるだけでなく、必要な照明範囲の確保と調整も可能となる。

【0092】なお、上記実施形態においては、リレーレンズ系は、リレーレンズ39並びに2枚の輪帯リレーレンズ48および49を備えて構成されるものであった。しかし、輪帯リレーレンズの枚数は2枚に限られるものではない。例えば、図22(b)に示すように、低倍率のコンデンサレンズ50Aが用いられ、且つ、リレーレンズ39Aからコンデンサレンズ50Aまでの光路が比較的短い場合には、これらの間には1枚の輪帯リレーレンズ48Aのみでもよい。

【0093】以上のように、励起光Cを傾斜輪帯光束に成形する際においても、また、傾斜輪帯光束とされた励起光Cをリレーレンズ系でコンデンサレンズ50まで伝送する際においても、励起光Cの損失は極めて少ない。さらに、ケーラー照明法を採用することにより拡散板を不要としたので、この点でも励起光Cの有効利用が図られる。したがって、光源10Aから出力され視野絞り15を通過した励起光Cの殆どの光束が被測定物60の所定領域に照射されることとなり、また、その所定領域か

ら発生する蛍光Dの強度も強くなることから、光検出器90は極めて明るい蛍光像を検出することができることになる。

【0094】また、本実施形態に係る暗視野落射顕微鏡は、第1乃至第3の実施形態の場合と比較すると、輪帯光束形成手段(円錐鏡34、凸円錐プリズム35、凹円錐プリズム36、回折格子37、38それぞれ)を単一の部品から構成することができるので加工・調整が容易となる。さらに、第1乃至第3の実施形態の場合と比較して、リレーレンズ系を構成する輪帯リレーレンズのうちの1枚を通常の凸レンズであるリレーレンズ39に置き換えることができるので、この点でも加工・調整が容易となる。

【0095】本発明は、上記実施形態に限定されるものではなく種々の変形と応用が可能である。例えば、輪帯光束形成手段として、最も簡単な輪帯絞り(遮光板)を使用することもできる。この場合、遮光板により光が遮られるので、光の利用効率は低下する。しかし、コレクタレンズ等の照明光学系の収差を操作することにより、絞り位置での開口部の強度を一樣ではなく収差を発生させて周辺部を明るくさせることで、光の利用効率の改善を図ることができる。

【0096】また、例えば応用として、暗視野落射蛍光顕微鏡において、励起光をパルス状に出力する光源と、被測定物から発生した蛍光を時間分解検出する手段とを備えることにより、蛍光寿命をも高精度に測定することができる。

【0097】また、比較的長い波長の操作光を出力する操作光源と、その操作光を被測定物の表面に照射させその照射位置を制御する操作制御装置などを設けてもよい。操作光が被測定物表面に照射されるとその照射位置の特性が変化を受けるので、操作光が照射された蛍光物質の挙動と操作光が照射されなかった蛍光物質の挙動とを比較することにより、蛍光物質の平均的な情報だけでなく、微環境下での個々の蛍光物質の挙動を観察することができる。

【0098】以上のように蛍光顕微鏡に適用する場合には、本来微弱な蛍光であっても、被測定物には励起光が高効率かつ一様に照射されるので、被測定物で発生する蛍光の強度は強く、したがって、コントラストとS/N比のよい蛍光像の測定、精度のよい蛍光寿命の測定、および、正確な蛍光物質の挙動の観察が可能となる。

【0099】

【発明の効果】以上、詳細に説明したとおり本発明によれば、光源部から出力された第1の光束(照明光または励起光)は、輪帯光束形成手段によって光束の損失が殆ど無く輪帯形状とされ、リレーレンズ系によって伝送損失が殆ど無くコンデンサレンズまで伝送される。

【0100】このような暗視野落射方式の照明方法としたので、光源部から出力された第1の光束は、効率よく

コンデンサレンズによって被測定物の所定領域に集光照射され、その所定領域から発生する第2の光束（散乱光または蛍光）の強度は大きく、光検出器で第2の光束の明るい像を優れたS/N比で観察することが可能となる。したがって、強度が弱い散乱光を観察することができ、特にならば、微弱な蛍光をも観察することもでき、特に蛍光単分子検出が容易になる。

【0101】また、ケーラー照明法や光源部にレンズアレイを採用することにより、光源部の発光ムラや指向性を解消して、被測定物の所定領域を一樣に照射することができ、第2の光束の正確な光像を得ることができる。

【0102】さらに、このような光学系としたことから、従来必要であった拡散板は不要となり、また、照明光学系の共役関係を維持することができるので、被測定物上の照明範囲の確保と絞り機能との両立が可能となる。

【0103】特に、輪帯光束形成手段として二重曲面鏡を用いる場合には、他の輪帯光束形成手段と比較して、色収差がないので、より広い波長域で使用でき、形状が特異である頂点がないので、加工や光学系の調整が容易となる。さらに、他の輪帯光束形成手段では必要であった輪帯光束を平行にするレンズは、頂点の位置ずれや傾きの影響が比較的少ないので、二重曲面鏡では不要である。

【0104】また、輪帯光束形成手段として傾斜輪帯光束を形成するもの（円錐鏡、凸円錐プリズム、凹円錐プリズム、回折格子それぞれ）を用いる場合には、輪帯光束形成手段を単一の部品から構成することができ、また、リレーレンズ系を構成する輪帯リレーレンズのうちの1枚を通常の凸レンズであるリレーレンズに置き換えることができるので、加工・調整が容易となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】第1の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。

【図2】二重円錐鏡の出射側から見た平面図、入射側から見た平面図、光軸に沿って切断した端面図、および斜視図である。

【図3】輪帯光束形成プリズムの出射側から見た平面図、入射側から見た平面図、光軸に沿って切断した断面図、および斜視図である。

【図4】反射型輪帯光束形成回折格子を光軸に沿って切断した断面図である。

【図5】反射型輪帯光束形成回折格子を光軸に沿って切断した断面図である。

【図6】輪帯リレーレンズの端面図と平面図である。

【図7】輪帯フレネルレンズの端面図と平面図である。

【図8】多数のレンズを融着接続して形成された輪帯リレーレンズの端面図と平面図である。

【図9】更に多数のレンズを融着接続して形成された輪

帯リレーレンズの端面図と平面図である。

【図10】輪帯リレーレンズ系の作用の説明図である。

【図11】輪帯リレーレンズ系の初段に斜めに入射した場合の照明光の光路の説明図である。

【図12】輪帯リレーレンズ系の変形例の説明図である。

【図13】第2の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。

【図14】第3の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。

【図15】第4の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。

【図16】第5の実施形態に係る暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。

【図17】円錐鏡を光軸に沿って切断した断面図である。

【図18】凸円錐プリズムを光軸に沿って切断した断面図である。

【図19】凹円錐プリズムを光軸に沿って切断した断面図である。

【図20】回折格子を光軸に沿って切断した断面図である。

【図21】回折格子を光軸に沿って切断した断面図である。

【図22】リレーレンズ系の変形例の説明図である。

【図23】従来型の暗視野落射顕微鏡の光学系の構成図である。

【図24】従来型の暗視野落射顕微鏡におけるコンデンサレンズと対物レンズとからなる暗視野対物レンズの照明光入射側から見た平面図である。

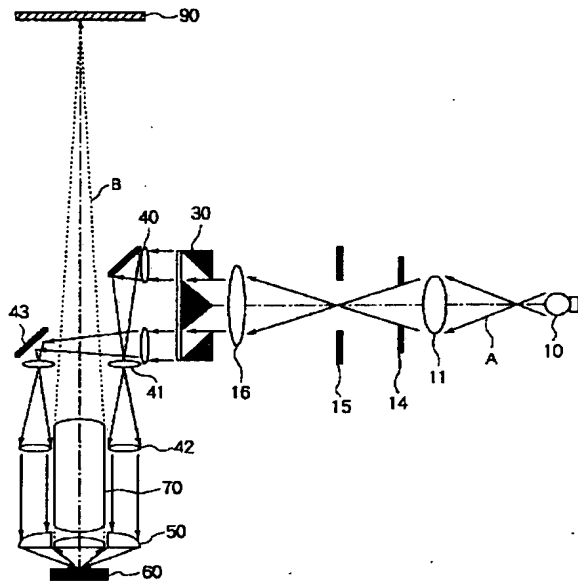
【図25】従来型の暗視野落射顕微鏡における視野絞りからコンデンサレンズに到るまでの光学系を示す図である。

【符号の説明】

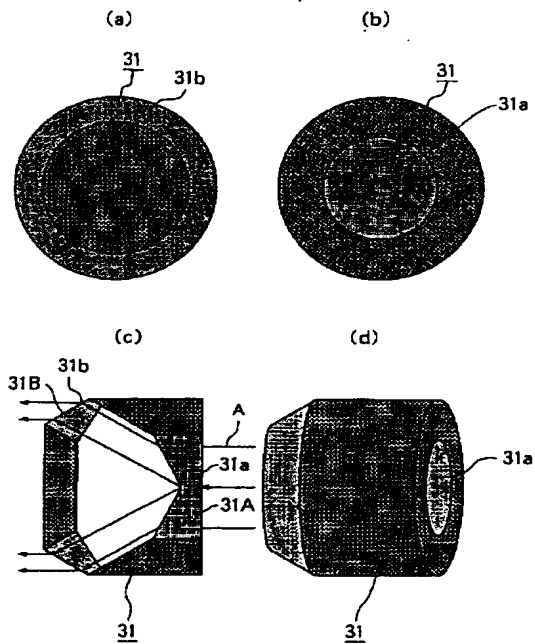
10、10A…光源、11…コレクタレンズ、12…レンズアレイ、13…コレクタレンズ、14…開口絞り、15…視野絞り、16…コリメータレンズ、17…光束径調整器、18…励起フィルタ、20…遮光板、21…拡散板、29…二重曲面鏡、30…二重円錐鏡、31…輪帯光束形成プリズム、32…反射型輪帯光束形成回折格子、33…透過型輪帯光束形成回折格子、34…円錐鏡、35…凸円錐プリズム、36…凹円錐プリズム、37、38…回折格子、39…リレーレンズ、40、41、42…輪帯リレーレンズ、43…輪帯反射鏡、44、45、46…輪帯フレネルレンズ、47…フレネルレンズ、48、49…輪帯リレーレンズ、50…コンデンサレンズ、60…被測定物、70…対物レンズ、80…結像レンズ、81…吸収フィルタ、90…光検出器、100…傾斜円錐内壁鏡、101…光ファイバ、102…光検出器、110…傾斜円錐遮光筒、A、A1、A

2, A 3…照明光、B…散乱光、C…励起光、D…螢 * * 光。

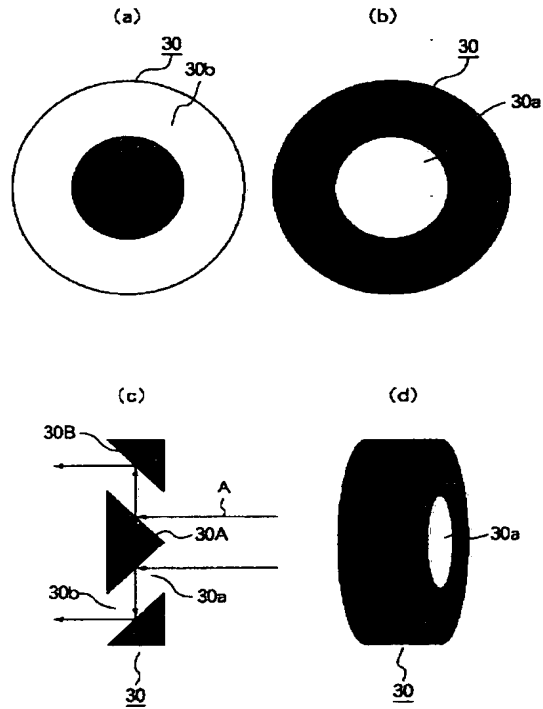
【図1】



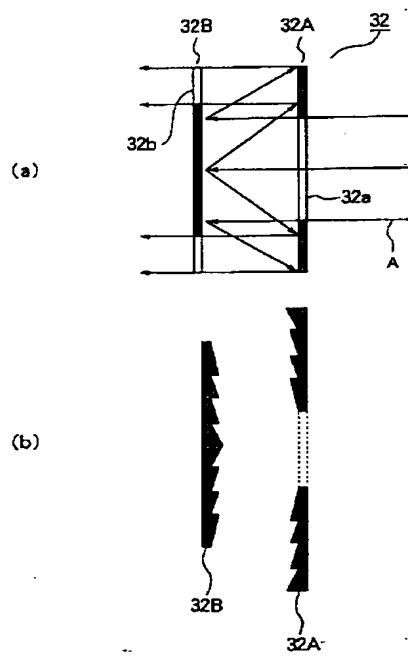
【図3】



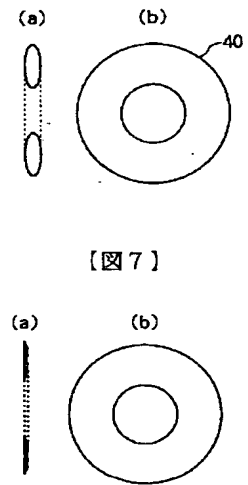
【図2】



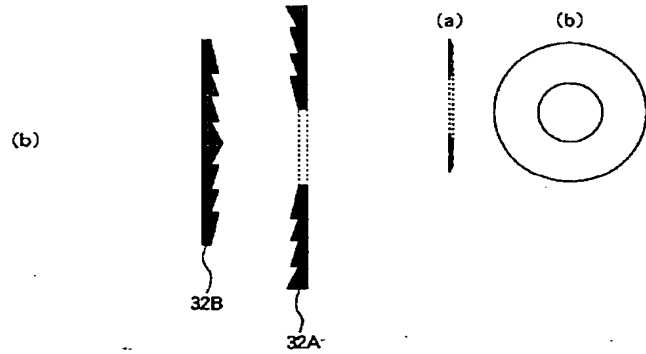
【図4】



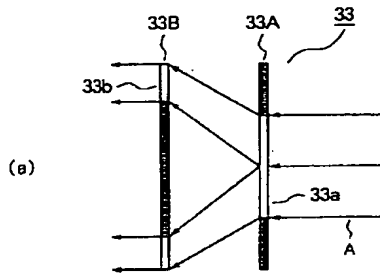
【図6】



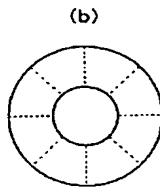
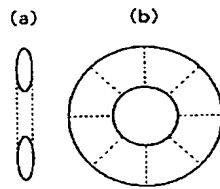
【図7】



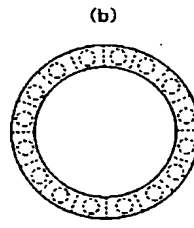
【図5】



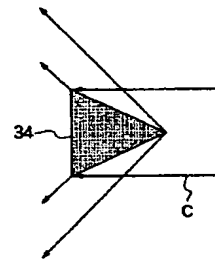
【図8】



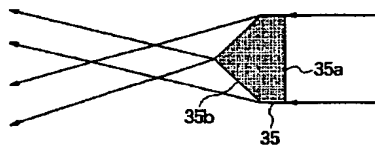
【図9】



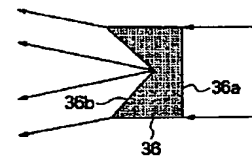
【図17】



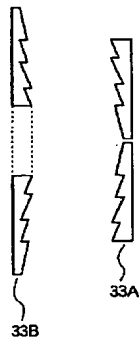
【図18】



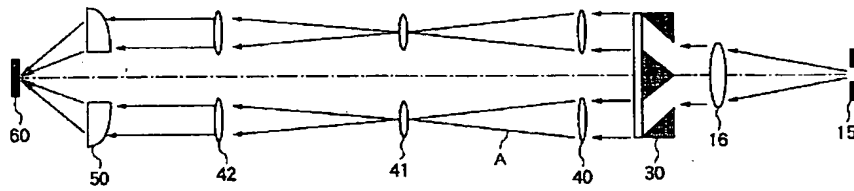
【図19】



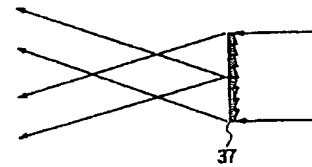
(b)



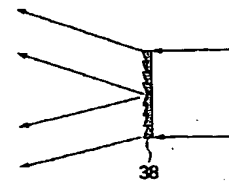
【図10】



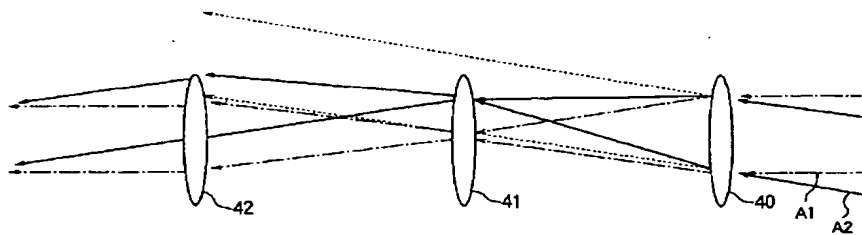
【図20】



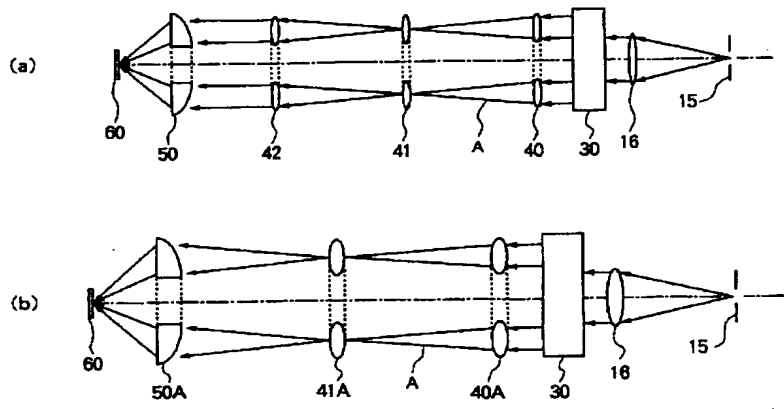
【図21】



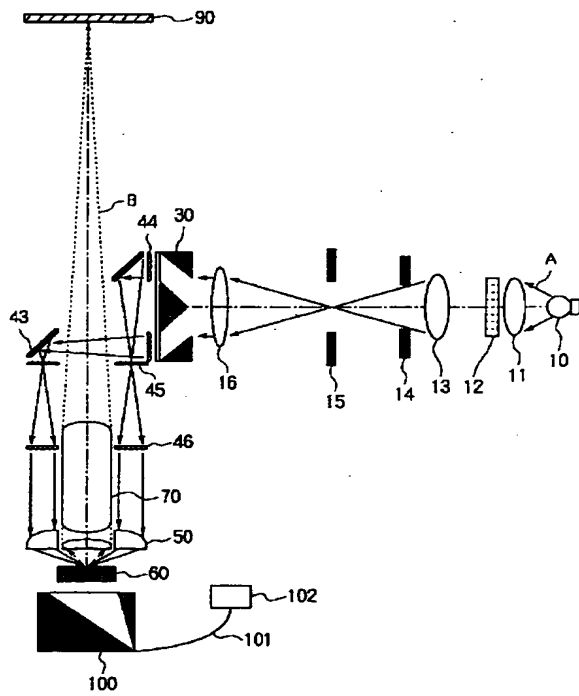
【図11】



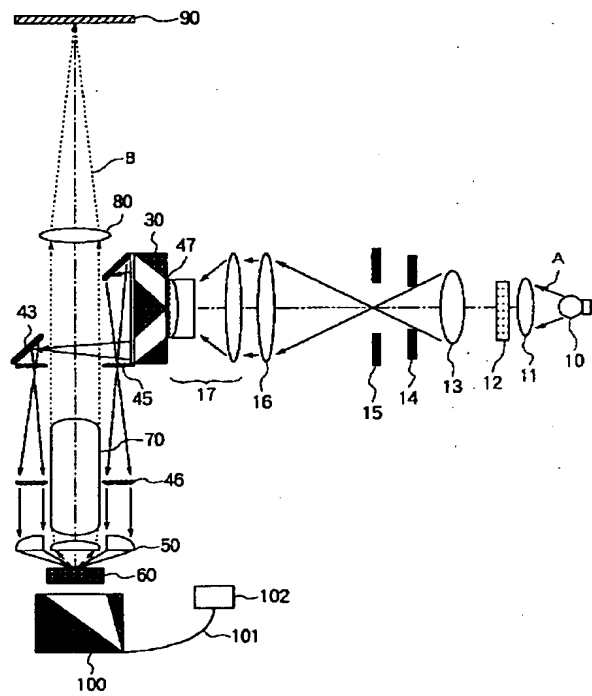
【図12】



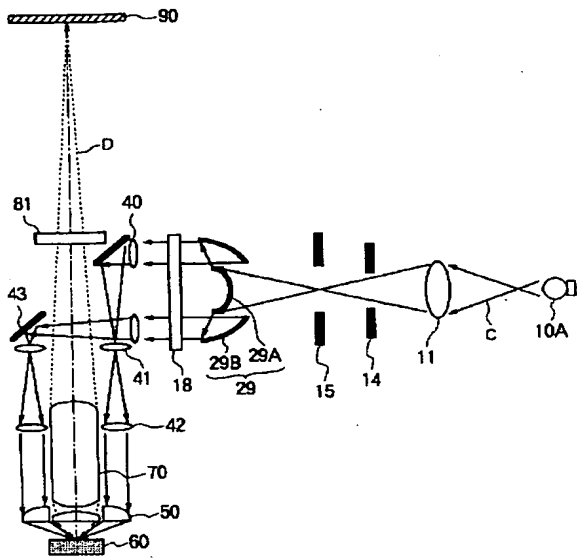
【図13】



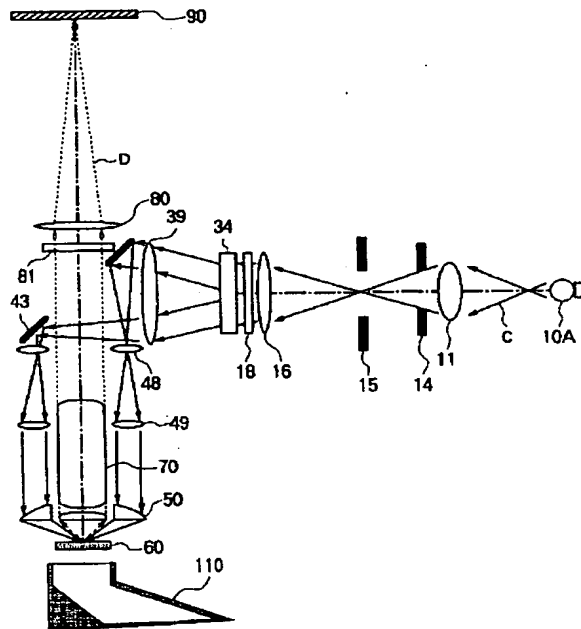
【図14】



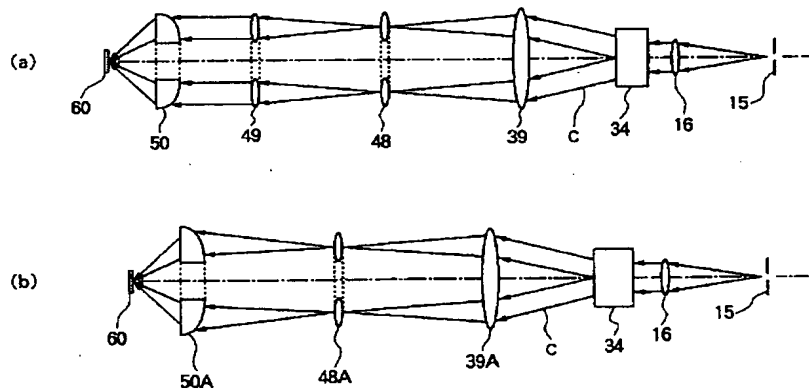
【図15】



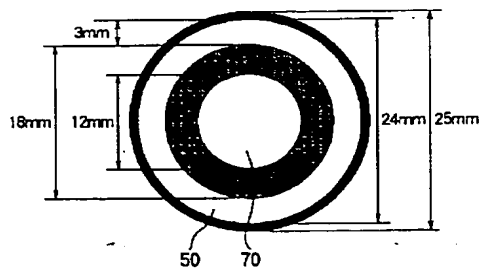
【図16】



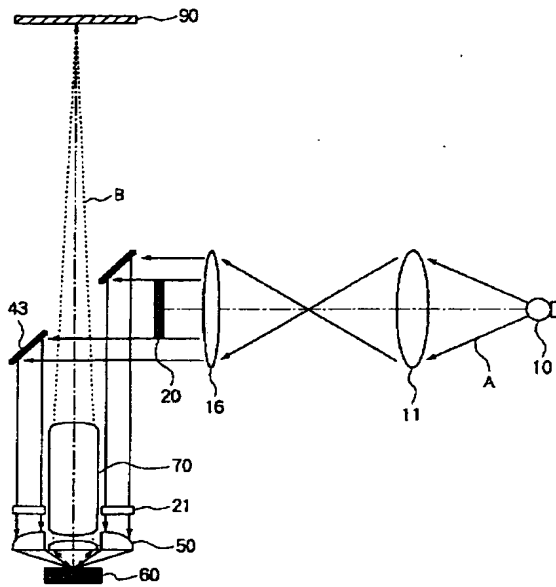
【図22】



【図24】



【図23】



【図25】

